

不同蛋白源对军曹鱼幼鱼碳、氮稳定同位素分馏的影响

周晖^{1,2}, 陈刚^{1,2}, 施钢^{1,2}, 张健东^{1,2}, 董晓慧¹

1. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524025;

2. 广东省普通高校南海水产经济动物增殖重点实验室, 广东 湛江 524025

摘要: 为研究饲料中不同蛋白源对军曹鱼幼鱼碳、氮稳定同位素分馏的影响, 配制 3 种等氮等能饲料。D1 以鱼粉为蛋白源, D2 和 D3 饲料中分别以啤酒酵母和玉米蛋白替代 10% 的鱼粉蛋白, 投喂幼鱼 24d。结果表明, 啤酒酵母和玉米蛋白替代 10% 的鱼粉蛋白后, 幼鱼的体重增加率显著下降。随养殖时间的延长, 所有处理组幼鱼的碳稳定同位素比率 $\delta^{13}\text{C}$ 逐渐上升而氮稳定同位素比率 $\delta^{15}\text{N}$ 逐渐下降; 虽然全鱼和肌肉 $\delta^{15}\text{N}$ 的变化速度存在差异, 但各饲料组全鱼和肌肉的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 都在 24d 后与饲料达到平衡。当饲料中 10% 的鱼粉蛋白被啤酒酵母和玉米蛋白替代之后, 幼鱼肌肉和全鱼样品与饲料相比的碳同位素富集 $\Delta^{13}\text{C}$ 值下降, 而氮同位素富集 $\Delta^{15}\text{N}$ 值则上升。其中全鱼 $\Delta^{13}\text{C}$ 从 4.19‰ 分别下降到 3.94‰ 和 3.63‰, 肌肉 $\Delta^{13}\text{C}$ 从 4.46‰ 分别下降到 3.98‰ 和 3.67‰; 全鱼 $\Delta^{15}\text{N}$ 从 0.18‰ 分别增加到 0.88‰ 和 0.94‰, 肌肉 $\Delta^{15}\text{N}$ 从 0.18‰ 分别增加到 0.74‰ 和 0.87‰。军曹鱼在摄食 3 种不同蛋白源饲料时, 其全鱼和肌肉的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\Delta^{15}\text{N}$ 的变化趋势相似, 但全鱼 $\delta^{15}\text{N}$ 的变化速度慢于肌肉。据此可推断, 肌肉可在生态学营养级研究(长时间尺度)中代表军曹鱼的碳、氮同位素特征; 但在代谢生理学研究(短时间尺度), 肌肉就无法准确反映军曹鱼全鱼的 $\delta^{15}\text{N}$ 变化过程。

关键词: 军曹鱼幼鱼; 酵母蛋白; 玉米蛋白; 碳、氮稳定同位素; 同位素分馏

中图分类号: S963; P735 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2014)05-0035-06

The effects of different diet protein sources on carbon and nitrogen isotope fractionation of juvenile cobia *Rachycentron canadum* L.

ZHOU Hui^{1,2}, CHEN Gang^{1,2}, SHI Gang^{1,2}, ZHANG Jian-dong^{1,2}, DONG Xiao-hui¹

1. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China;

2. Key Laboratory of Aquaculture in South China Sea for Aquatic Economic Animal, Regular High Education Institute of Guangdong Province, Zhanjiang 524025, China

Abstract: In order to investigate the effects of different diet protein sources on carbon and nitrogen isotope fractionation of juvenile cobia *Rachycentron canadum* L., three isonitrogenous and isocaloric diets were formulated. The protein source in D1 was fish meal; beer yeast meal and corn gluten meal protein replaced 10% fish meal in D2 and D3, respectively. The diets were fed to juvenile cobia for 24 days. The results showed that, when 10% fish meal was replaced, the weight gain rate (WGR) of cobia decreased significantly. The carbon isotope ratio $\delta^{13}\text{C}$ of cobia increased in time and nitrogen isotope ratio $\delta^{15}\text{N}$ decreased in time in all groups. Although the change speeds of $\delta^{15}\text{N}$ were different, the whole fish and muscle of cobia fed with different diets reached isotope equilibrium states with their diets when the feeding experiment was accomplished. When 10% fish meal was replaced by beer yeast meal (corn gluten meal) protein, the carbon isotope fractionation $\Delta^{13}\text{C}$ decreased while nitrogen isotope fractionation $\Delta^{15}\text{N}$ increased in the whole fish and muscle of cobia; $\Delta^{13}\text{C}$ of the whole fish decreased

收稿日期: 2013-06-24; 修订日期: 2013-09-20。孙淑杰编辑

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项(201205028); 广东省海洋经济创新发展区域示范专项(GD2012-A01-007); 广东省科技计划项目(2009B020308005、2010B080203044、2011B020307012); 广东省海洋与渔业科技项目(A2009-08D03、A2010-08D04); 广东海洋大学 2008 年校选项目(0812068)

作者简介: 周晖(1978~), 男, 广西玉林市人, 讲师, 硕士, 主要从事鱼类生理生态学研究。Tel: 13421718683; E-mail: 346005548@qq.com

通信作者: 陈刚(1961~), 男, 广东省潮州市人, 教授, 学士, 主要从事鱼类繁育和养殖研究。Tel: 13702720713; E-mail: cheng@gdou.edu.cn

from 4.19‰ to 3.94‰ and 3.63‰, $\Delta^{13}\text{C}$ of the muscle decreased from 4.46‰ to 3.98‰ (to 3.67‰), and $\Delta^{15}\text{N}$ of the whole fish increased from 0.18‰ to 0.88‰ (to 0.94‰), $\Delta^{15}\text{N}$ of the muscle increased from 0.18‰ to 0.74‰ (to 0.87‰). When the three diets with different protein sources were fed, the variation trends of $\Delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{15}\text{N}$ were similar between whole fish and muscle of cobia, but the change speed of whole fish $\delta^{15}\text{N}$ was slower than that of muscle. These results indicated that cobia muscle can represent the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ characters of whole fish in trophic level study of ecosystem (long time scale), but cannot represent the change process of whole fish $\delta^{15}\text{N}$ in metabolic physiology study (short time scale).

Key words: juvenile cobia; beer yeast meal; corn gluten meal; $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$; isotope fractionation

各种元素的稳定同位素在自然界中普遍存在, 无放射性, 可作为标记物质(或示踪物质)广泛应用于生态系统食物网和营养级相关研究, 其中最常用的是碳和氮这两种最重要的生物组成元素的稳定同位素。由于稳定同位素分馏效应(Fry, 2006)的存在, 消费者与其食物之间会存在稳定同位素差异, 包括生物体对稳定同位素的富集以及稳定同位素在生物体内的组织分配差异, 这是稳定同位素营养学研究的基础。DeNiro 等(1978, 1981)研究发现, 消费者的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与其食物非常接近, 可以通过 $\delta^{13}\text{C}$ 值判断消费者的主要食物来源; 而且生物的营养级越高, 其 $\delta^{15}\text{N}$ 值越大, 可由 $\delta^{15}\text{N}$ 确定生物在食物网中所处的营养级及食物组成。国内外众多研究者已根据稳定同位素分馏效应对众多水生生物的食性(Anderson, et al, 1987; Buchheister, et al, 2010; Hobson, et al, 1992; Fry, et al, 1982; Hesslein, et al, 1993; Gamboa-Delgado, et al, 2008; Gamboa-Delgado, et al, 2009; Suzuki, et al, 2005; Seminoff, et al, 2007; Sweeting, et al, 2007; Van der Zanden, et al, 1998; Vollaie, et al, 2007; 蔡德陵 等, 2003)和生态系统营养结构 (Martínez del Rio, et al, 2005; Peterson, et al, 1987; 郭旭鹏 等, 2007; 李忠义 等, 2009; 卢伙胜 等, 2009)开展了研究, 证明了稳定同位素技术的可行性和高效性; 在这些研究中也发现, 不同生物对食物的稳定同位素分馏效应差异显著, 即便同种生物摄食不同食物时分馏效应也不相同, 因此在应用稳定同位素技术开展特定生物的营养研究时, 必须先弄清其碳、氮稳定同位素分馏规律, 并选择具有代表性的组织或器官来进行测定。

军曹鱼 *Rachycentron canadum*, 隶属鲈形目 Perciformes、军曹鱼科 Rachycentridae、军曹鱼属 *Rachycentron*, 俗称海鲷, 为肉食性暖水鱼类。军曹鱼能很好地摄食配合饲料, 生长速度快, 抗病力强, 目前已成为我国南方主养海水鱼类之一, 是一种发展潜力巨大的深水网箱养殖品种。作者的前期研究结果表明(周晖 等, 2012), 豆粕、啤酒酵母和玉米蛋白粉这 3 种蛋白源在替代饲料中 10% 的鱼粉时, 不会对军曹鱼幼鱼(30 ~ 38g)的生长和体成分产生不良影响。本研究以全鱼粉蛋白饲料作为对照, 分别

用酵母蛋白和玉米蛋白替代 10% 蛋白配制 2 种实验饲料, 在流水式水族箱中开展养殖实验, 研究军曹鱼幼鱼全鱼和肌肉碳、氮稳定同位素变化情况, 弄清饲料中不同蛋白源对军曹鱼幼鱼碳、氮稳定同位素分馏的影响, 为采用稳定同位素技术开展军曹鱼幼鱼饲料中鱼粉替代蛋白的相关研究提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料设计

实验饲料主要营养成分含量见表 1。

表 1 饲料配方和化学组成(干物质; 单位: %)

Tab. 1 Formulation and chemical composition of the experimental diets (dry matter; Units: %)

		饲料		
		D1	D2	D3
饲料配方	替代蛋白	0.00	9.25	7.55
	鱼粉	68.00	61.20	61.20
	淀粉	15.00	15.00	15.00
	豆油	2.20	2.48	2.39
	鱼油	2.20	2.48	2.39
	乌贼内脏膏	2.00	2.00	2.00
	复合预混料	2.50	2.50	2.50
	纤维素	5.60	2.59	4.47
	黏合剂	2.50	2.50	2.50
	合计	100	100	100
营养水平	粗蛋白	45.27	45.27	45.28
	粗脂肪	10.36	10.36	10.35
	总能/(kJ·g ⁻¹)	19.25	19.69	19.69

设计 3 种等氮等能饲料, 其中 D1 以鱼粉[蛋白质含量(66.6 ± 3.2)%]作为蛋白源, D2 和 D3 分别用啤酒酵母[蛋白质含量(48.9 ± 1.7)%]和玉米蛋白粉[蛋白质含量(58.5 ± 1.6)%]替代 10% 鱼粉蛋白。饲料原料均从湛江粤海饲料厂采购, 在实验室中粉碎后过筛(孔径 0.25mm), 饲料原料充分搅拌混匀后, 加水挤压制成直径 3.0mm 的颗粒, 在阴凉处风干后冷藏备用。

1.2 实验用鱼

军曹鱼受精卵购自海南, 在广东海洋大学东海

岛海水鱼育苗场培育。种苗在转饵之后一直投喂同种鱼糜,使幼鱼在实验前具有相同且稳定的同位素值。从室外育苗池塘将实验鱼运到室内池后驯养 7d,选取大小相近(体质量 21.3 ± 1.5 g)的健康幼鱼进行养殖实验。

1.3 养殖管理

实验鱼以流水式养殖系统养殖,分为 3 个饲料组,每组 3 个重复,共 9 个水族箱(70cm×50cm×60cm),每箱放幼鱼 40 尾。养殖实验开始前禁食 24h,测定所有实验鱼的初始体质量。对照组投喂 D1 饲料,2 个实验组分别投喂 D2 和 D3 饲料,养殖 24d。水族箱全天充气,每天 9:00 和 15:00 定时投喂饲料至饱食。实验用水为经沉淀及沙滤处理的天然海水,流水交换量为每日 100%~150%。实验期间水温范围 27~33℃,溶氧 5~6mg·L⁻¹,盐度 28‰~32‰,氨氮浓度小于 0.5mg·L⁻¹,无实验鱼死亡。

1.4 样品采集与测定

初始样品采样 6 尾禁食 24h 的幼鱼。实验鱼在养殖 2、4、8、16 和 24d 后采样,每个水族箱每次采样 6 尾,放置在小水槽中禁食 24h 后采集,测量其湿体质量。

1.5 样品稳定同位素测定

3 种饲料各取 3 份,鱼粉、啤酒酵母和玉米蛋白粉各取 3 份,全鱼和背部肌肉样品各 3 尾,测定其碳、氮稳定同位素值。所有样品均于 70℃ 烘干并磨匀,以甲醇氯仿混合溶液(50:50)萃取去除脂类后于 60℃ 烘干,将 0.7~0.9mg 的样品装入小锡囊中,送到美国加利福尼亚州达尔文大学,用 PDZ Europa ANCA-GSL 元素分析仪和 PDZ Europa 20-20 稳定同位素质谱仪测定。在分析过程中,以谷氨酸及尼龙为内标,以验证数据分析精度。用学术界惯用的 δ 值来代表重、轻同位素比值(DeNiro, et al, 1978):

$$\delta X\text{‰} = [(R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

表 2 蛋白源及饲料的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$

Tab. 2 The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of protein sources and diets

样品		氮同位素值 $\delta^{15}\text{N}$	碳同位素值 $\delta^{13}\text{C}$	含氮量/%	含碳量/%	C : N
蛋白源	鱼粉	17.19±0.00 ^a	-17.23±0.03 ^b	12.70±0.21 ^a	44.86±0.52 ^b	3.53±0.01 ^b
	啤酒酵母	2.36±0.03 ^b	-22.23±0.03 ^c	7.85±0.15 ^c	42.34±0.91 ^c	5.40±0.02 ^a
	玉米蛋白粉	1.82±0.04 ^c	-14.51±0.03 ^a	9.90±0.15 ^b	49.79±0.38 ^a	5.03±0.04 ^a
饲料	D1	17.18±0.64 ^a	-20.47±0.23 ^b	7.72±0.09 ^a	41.48±1.49 ^a	5.37±0.11 ^a
	D2	15.68±0.20 ^b	-20.28±0.07 ^b	7.78±0.35 ^a	41.46±0.81 ^a	5.34±0.20 ^a
	D3	15.61±0.32 ^b	-19.22±0.04 ^a	7.76±0.33 ^a	40.85±0.90 ^a	5.27±0.18 ^a

注:表中数据为各组样品数据的平均值±标准差,一列同组数据上标字母相同则表示差异不显著($p>0.05$)。

式中 X 代表所测定的元素, R_{sample} 为样品重轻稳定同位素比值, R_{standard} 为标准物重、轻稳定同位素比值, $\delta^{13}\text{C}$ 值的标准物为 PeeDee(箭石化石), $\delta^{15}\text{N}$ 值标准物为大气中的氮。

1.6 指标计算

根据实验前后幼鱼体质量变化计算实验鱼体质量增加率:

$$\text{体质量增加率(WGR)} = (W_e - W_0) / W_0 \quad (1)$$

式中, W_0 为实验鱼平均初始体质量(湿重, g), W_e 为实验鱼平均终末体质量(湿重, g)。

以军曹鱼全鱼和肌肉同位素平衡值与饲料同位素值的差值计算同位素富集:

$$\text{碳同位素富集} \Delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C}_e - \delta^{13}\text{C}_d \quad (2)$$

$$\text{氮同位素富集} \Delta^{15}\text{N} = \delta^{15}\text{N}_e - \delta^{15}\text{N}_d \quad (3)$$

式中, $\delta^{13}\text{C}_e$ 为样品碳同位素平衡值, $\delta^{13}\text{C}_d$ 为饲料碳同位素值; $\delta^{15}\text{N}_e$ 为样品氮同位素平衡值, $\delta^{15}\text{N}_d$ 为饲料氮同位素值。

1.7 数据处理

用 SPSS 16.0 进行数据分析。实验结果经过单因素方差分析后,对各实验组间差异进行 Duncan's 多重比较和显著性分析, p 值小于 0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 蛋白源和饲料碳氮同位素值

如表 2 所示,本研究所用的 3 种蛋白源的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值及碳、氮含量差异显著,所制备的 2 种实验饲料与对照饲料的 $\delta^{15}\text{N}$ 值也差异显著。3 种饲料碳、氮含量及碳氮比差异不显著,符合设计目标。

2.2 不同蛋白源饲料对幼鱼体质量增长的影响

如表 3 所示,实验开始之前各组幼鱼的初始体质量差异不显著,而实验结束后 2 个实验组的终体质量和体质量增加率都显著小于对照组,两个实验组之间则无显著差异。

表 3 投喂 3 种饲料的军曹鱼幼鱼生长情况

Tab. 3 Growth of juvenile *R. canadum* fed by three different diets

饲料	初始体质量/g	终体质量/g	体质量增加率/%
D1	21.46±0.28 ^a	112.49±4.64 ^a	429.62±22.45 ^a
D2	21.38±1.75 ^a	103.04±4.33 ^b	378.70±20.07 ^b
D3	21.39±1.54 ^a	100.41±4.21 ^b	370.47±15.63 ^b

注: 表中数据为各组样品数据的平均值±标准差, 一列同组数据上标字母相同则表示差异不显著($p>0.05$)。

2.3 不同蛋白源饲料对幼鱼全鱼和肌肉 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 的影响

在投喂不同饲料之后, 对照组与实验组军曹鱼幼鱼全鱼和肌肉的 $\delta^{15}\text{N}$ 都在第 8 天开始出现显著差异, 此后的 2 次采样也都有显著差异。如表 4 所示, 在投喂不同饲料之后, 对照组全鱼的 $\delta^{15}\text{N}$ 在第 16 天才与初始样品产生显著差异, 而 10% 酵母蛋白组和 10% 玉米蛋白组分别在第 8 天与第 4 天就与初始样品产生显著差异。3 个饲料组肌肉的 $\delta^{15}\text{N}$ 分别第 8 天、第 4 天和第 2 天与初始样品产生显著差异。

在投喂不同饲料之后, 对照组和 10% 酵母蛋白组军曹鱼幼鱼全鱼和肌肉的 $\delta^{13}\text{C}$ 在 24d 的实验

过程中无显著差异, 而 10% 玉米蛋白组全鱼的 $\delta^{13}\text{C}$ 在第 8 天与另外 2 组开始出现显著差异, 10% 玉米蛋白组肌肉则第 16 天与另外 2 组开始出现显著差异。如表 5 所示, 在投喂不同饲料之后, 对照组和 10% 玉米蛋白组全鱼和肌肉的 $\delta^{13}\text{C}$ 都是在第 4 天与初始样品产生显著差异, 而 10% 酵母蛋白组在第 8 天才与初始样品产生显著差异。

3 个饲料组最后 2 次全鱼和肌肉样品的 $\delta^{15}\text{N}$ 差异不显著, 取这 2 次样品 $\delta^{15}\text{N}$ 的均值作为平衡值与饲料进行比较, 结果见表 6。3 个饲料组最后 2 次全鱼和肌肉样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 差异不显著, 取这 2 次样品 $\delta^{13}\text{C}$ 均值与饲料进行比较, 结果见表 6。如表 6 所示, 饲料中加入替代蛋白后, 军曹鱼肌肉和全鱼的 $\Delta^{13}\text{C}$ 值减小而 $\Delta^{15}\text{N}$ 值增大; 在数值上, $\Delta^{13}\text{C}$ 较大(全鱼 3.63‰~4.19‰, 肌肉 3.67‰~4.46‰)而 $\Delta^{15}\text{N}$ 较小(全鱼 0.18‰~0.94‰, 肌肉 0.18‰~0.87‰)。

3 讨论

3.1 生物体与其食物的稳定同位素平衡

生物体的稳定同位素特征是由其所摄食的食物决定的(DeNiro, et al, 1978; DeNiro, et al, 1981), 如果同种生物摄食不同食物, 那么其稳定同位素特

表 4 投喂 3 种饲料的军曹鱼幼鱼全鱼和肌肉 $\delta^{15}\text{N}$ 比较Tab. 4 Compare of $\delta^{15}\text{N}$ in whole fish and muscle of *R. canadum* fed by three different diets

时间	全鱼			肌肉		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0d	17.81±0.57 ^a	17.81±0.57 ^a	17.81±0.57 ^a	18.24±0.19 ^a	18.24±0.19 ^a	18.24±0.19 ^a
2d	17.73±0.04 ^a	17.71±0.09 ^a	17.62±0.30 ^{ab}	18.15±0.05 ^a	17.93±0.07 ^{ab}	17.90±0.15 ^b
4d	17.66±0.10 ^{ab}	17.54±0.11 ^a	17.43±0.26 ^b	17.94±0.07 ^{ab}	17.75±0.15 ^b	17.79±0.25 ^b
8d	17.57±0.09 ^{ab}	16.99±0.11 ^b	17.07±0.10 ^c	17.72±0.11 ^{bc}	17.26±0.21 ^c	17.21±0.08 ^c
16d	17.39±0.03 ^b	16.58±0.17 ^c	16.63±0.22 ^d	17.41±0.38 ^{cd}	16.46±0.27 ^d	16.56±0.27 ^d
24d	17.34±0.08 ^b	16.55±0.13 ^c	16.46±0.28 ^d	17.31±0.03 ^d	16.38±0.14 ^d	16.39±0.17 ^d

注: 表中数据为各组样品数据的平均值±标准差, 一列同组数据上标字母相同则表示差异不显著($p>0.05$)。

表 5 投喂 3 种饲料的军曹鱼幼鱼全鱼和肌肉 $\delta^{13}\text{C}$ 比较Tab. 5 Compare of $\delta^{13}\text{C}$ in whole fish and muscle of *R. canadum* fed by three different diets within groups

时间	全鱼			肌肉		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0d	-17.10±0.09 ^a	-17.10±0.09 ^a	-17.10±0.09 ^a	-17.00±0.24 ^a	-17.00±0.24 ^a	-17.00±0.24 ^a
2d	-16.88±0.12 ^{ab}	-16.97±0.35 ^a	-16.86±0.41 ^{ab}	-16.84±0.07 ^{ab}	-16.87±0.03 ^a	-16.78±0.14 ^{ab}
4d	-16.73±0.08 ^{bc}	-16.78±0.45 ^{ab}	-16.55±0.27 ^b	-16.64±0.03 ^b	-16.78±0.15 ^{ab}	-16.48±0.10 ^b
8d	-16.55±0.08 ^c	-16.61±0.23 ^{bc}	-15.89±0.19 ^c	-16.30±0.10 ^c	-16.45±0.18 ^{bc}	-16.08±0.05 ^c
16d	-16.38±0.13 ^{dc}	-16.39±0.29 ^c	-15.65±0.08 ^{cd}	-16.08±0.06 ^{cd}	-16.34±0.20 ^c	-15.64±0.25 ^d
24d	-16.19±0.11 ^d	-16.29±0.21 ^c	-15.54±0.27 ^d	-15.93±0.02 ^d	-16.27±0.12 ^c	-15.47±0.09 ^d

注: 表中数据为各组样品数据的平均值±标准差, 一列同组数据上标字母相同则表示差异不显著($p>0.05$)。

表 6 3 个饲料组军曹鱼肌肉和全鱼 $\Delta^{13}\text{C}$ 和 $\Delta^{15}\text{N}$ Tab. 6 The $\Delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{15}\text{N}$ of *R. Canadum* Whole fish, Muscle in three groups

	全鱼				肌肉			
	^{13}C 平衡值	$\Delta^{13}\text{C}$	^{15}N 平衡值	$\Delta^{15}\text{N}$	^{13}C 平衡值	$\Delta^{13}\text{C}$	^{15}N 平衡值	$\Delta^{15}\text{N}$
D1	-16.28	4.19	17.36	0.18	-16.01	4.46	17.36	0.18
D2	-16.34	3.94	16.57	0.88	-16.31	3.98	16.42	0.74
D3	-15.60	3.63	16.55	0.94	-15.56	3.67	16.48	0.87
均值	-16.07±0.41	3.92±0.28	16.83±0.46	0.67±0.42	-15.96±0.38	4.04±0.40	16.75±0.53	0.60±0.37

征也会相应地产生差异。本研究就是通过改变饲料的蛋白源,观察军曹鱼全鱼和肌肉碳、氮稳定同位素特征的变化情况和同位素分馏效应。生物体同位素分馏效应的研究通常需要食物被充分整合进生物组织,使生物体与其食物达到稳定同位素平衡;但各种生物与其食物达到平衡所需的时间差异很大,主要取决于生物组织的代谢率以及生物的生长率(Hobson, et al, 1992; Hesslein, et al, 1993; Buchheister, et al, 2010)。大量的研究结果表明(Fry, et al, 1982; Anderson, et al, 1987; Van der Zanden, et al, 1998),摄食新食物之后,生物的体质量要增长 2.5~4 倍才能与其食物达到同位素平衡。蔡德陵等(2003)发现,如果养殖对象个体较大,而养殖时间又较短,养殖对象没有与新食物达到同位素平衡,那么对养殖对象的稳定同位素分馏分析就可能产生偏差。本研究中,军曹鱼幼鱼在养殖 24d 后体质量都增长了近 4 倍(表 3),且各饲料组全鱼和肌肉最后 2 次样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值差异不显著,可认为幼鱼已与其饲料达到稳定同位素平衡。

3.2 军曹鱼的稳定同位素分馏效应

在本研究中,生物体对碳、氮稳定同位素的富集用 $\Delta^{13}\text{C}$ 和 $\Delta^{15}\text{N}$ 来表示。在生态系统研究中,不同生物 $\Delta^{13}\text{C}$ 和 $\Delta^{15}\text{N}$ 的范围是很广泛的, Peterson 等(1987)通过对大量研究文献的比较发现,相邻营养级之间的 $\Delta^{15}\text{N}$ 的范围在 3‰~5‰之间,而 $\Delta^{13}\text{C}$ 的范围在 0‰~1‰之间。生物体与其食物间较大的稳定同位素级差可能与食物中缺乏某些生物在特定生长阶段必需的营养物质有关,因为生物体会通过提高摄食量来弥补食物中营养物质的缺陷,而这就使得生物体必须进行更多非必须营养物质的代谢循环,导致了更多重稳定同位素在生物体内的积累(Martínez del Rio, et al, 2005)。Gamboa-Delgado 等(2008)对塞内加尔鲷 *Solea senegalensis* 和凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei*(Gamboa-Delgado, et al, 2009)的研究结果分别支持了饵料营养缺乏(由于吸收不充分或营养组成不平衡)导致实验对象 $\Delta^{13}\text{C}$ 和 $\Delta^{15}\text{N}$ 增大的假设。Gamboa-Delgado 等(2009)认为 $\Delta^{15}\text{N}$ 的增加与凡

纳滨对虾饲料中纯化大豆蛋白的含量具有最显著的相关性,大豆中氨基酸种类不均衡、可利用性相对较低是导致组织与饲料同位素富集增大的主要原因。在本研究中也发现,投喂 10%酵母蛋白和 10%玉米蛋白替代鱼粉饲料之后,军曹鱼幼鱼全鱼和肌肉的 $\Delta^{13}\text{C}$ 和 $\Delta^{15}\text{N}$ 都增大了(表 6),表明酵母蛋白和玉米蛋白替代饲料中 10%的鱼粉导致饲料产生了营养缺陷,这与投喂替代蛋白饲料的实验鱼体质量增加率显著下降的生长结果相吻合。

在本研究中,军曹鱼幼鱼的 $\Delta^{13}\text{C}$ 值高于 $\Delta^{15}\text{N}$ 值,与 Peterson 等(1987)报道的结果差别很大,其主要原因是 Peterson 等(1987)所报道的是生态系统中野生生物的普遍情况,与实验室特定生物的研究结果具有很大差异。比如 Gamboa-Delgado 等(2009)的研究结果就表明,同种生物在投喂不同饵料时,其 $\Delta^{15}\text{N}$ 值的变化范围其实是很宽的,这也从另外一个侧面印证了在采用稳定同位素技术深入开展军曹鱼幼鱼对豆粕等鱼粉替代蛋白源利用效率研究前,必须先弄清饲料中豆粕含量对军曹鱼幼鱼碳、氮稳定同位素分馏的影响,而不能直接引用文献中生物碳、氮稳定同位素分馏的经验值。

众多研究表明(Suzuki, et al, 2005; Seminoff, et al, 2007; Sweeting, et al, 2007; Vollaie, et al, 2007),稳定同位素在生物体内会发生差异分配,即生物体所摄取的不同食物成分会被其特定组织或部位选择性吸收,而且生物不同体组织对饲料蛋白源变化的响应速度也不同,组织达到同位素分馏平衡所需的时间具有较大差异,这可能导致动物特定组织无法反映其整体的同位素组成和变化规律,因此在采用稳定同位素方法开展动物食性和营养相关研究时,应根据特定研究的目的和时间尺度选取具有代表性的体组织。在本研究中,同时测定了军曹鱼全鱼和肌肉的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$,发现军曹鱼在摄食 3 种不同蛋白源饲料时,其全鱼和肌肉的 $\Delta^{13}\text{C}$ 和 $\Delta^{15}\text{N}$ 都比较接近(表 6),但全鱼 $\delta^{15}\text{N}$ 的变化速度慢于肌肉(表 4)。据此可推断,肌肉可在生态学营养级研究中(长时间尺度)代表军曹鱼的同

位素特征;但在代谢生理学研究中(短时间尺度),肌肉就无法准确反映军曹鱼全鱼的 $\delta^{15}\text{N}$ 变化过程。

参考文献

- 蔡德陵, 张淑芳, 唐启升, 等. 2003. 鲈鱼新陈代谢过程中的碳氮稳定同位素分馏作用[J]. 海洋科学进展, 21(3): 308–317.
- 郭旭鹏, 李忠义, 金显仕, 等. 2007. 采用碳氮稳定同位素技术对黄海中海部鳊鱼食性的研究[J]. 海洋学报: 中文版, 29(2): 98–104.
- 李忠义, 左涛, 戴芳群, 等. 2009. 长江口及南黄海水域春季生物摄食生态的稳定同位素研究[J]. 水产学报, 33(5): 784–789.
- 卢伙胜, 欧帆, 颜云榕. 2009. 应用氮稳定同位素技术对雷州湾海域主要鱼类营养级的研究[J]. 海洋学报: 中文版, 31(3): 167–174.
- 周晖, 陈刚, 林小涛. 2012. 三种蛋白源部分替代鱼粉对军曹鱼幼鱼生长和体成分的影响[J]. 水产科学, 31(6): 311–315.
- ANDERSON R K, PARKER P L, LAWRENCE A A. 1987. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tracer study of the utilization of presented feed by a commercially important shrimp *Penaeus vannamei* in a pond growout system [J]. J World Aquacult Soc, 18(3): 148–155.
- BUCHHEISTER A, LATOUR R J. 2010. Turnover and fractionation of carbon and nitrogen stable isotopes in tissues of a migratory coastal predator, summer flounder (*Paralichthys dentatus*) [J]. Can J Fish Aquat Sci, 67(3): 445–461.
- DENIRO M J, EPSTEIN S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotope ratios in animals [J]. Geochim Cosmochim Acta, 42: 495–506.
- DENIRO M J, EPSTEIN S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals [J]. Geochim Cosmochim Acta, 45: 341–351.
- FRY B, ARNOLD C. 1982. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*) [J]. Oecologia, 54(2): 200–204.
- FRY, B. 2006. Stable isotope ecology [M]. New York: Springer Science: 196.
- GAMBOA-DELGADO J, CAÑAVATE J P, ZEROLO R, et al. 2008. Natural carbon stable isotope ratios as indicators of the relative contribution of live and inert diets to growth in larval Senegalese sole (*Solea senegalensis*) [J]. Aquaculture, 280(1): 190–197.
- GAMBOA-DELGADO J, LEWIS L V. 2009. Natural stable isotopes as indicators of the relative contribution of soy protein and fish meal to tissue growth in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed compound diets [J]. Aquaculture, 291 (1/2): 115–123.
- HESSLEIN R H, HALLARD K A, RAMLAL P. 1993. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by ^{34}S , ^{13}C , and ^{15}N [J]. Can J Fish Aquat Sci, 50(10): 2071–2076.
- HOBSON K A, CLARK R G. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes 1: Turnover of ^{13}C in tissues [J]. Condor, 94(1): 181–188.
- MARTÍNEZ DEL RIO C, WOLF B O. 2005. Mass-balance models for animal isotopic ecology [M]//STARCK J M, WANG T. Physiological and ecological adaptations to feeding in vertebrates. Enfield: Science Publishers: 141–174.
- PETERSON B J, FRY B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies [J]. Ann Rev Ecol Syst, 18: 293–320.
- SEMINOFF A J, KAREN A B, ALAN B B. 2007. Stable carbon and nitrogen isotope discrimination and turnover in pond sliders *Trachemys scripta*: Insights for trophic study of freshwater turtles [J]. Copeia, (3): 534–542.
- SUZUKI KW, KASAI A, NAKAYAMA K, et al. 2005. Differential isotopic enrichment and half-life among tissues in Japanese temperate bass (*Lateolabrax japonicus*) juveniles: Implications for analyzing migration [J]. Can J Fish Aquat Sci, 62(3): 671–678.
- SWEETING C, BARRY J, BARNES C, et al. 2007. Effects of body size and environment on diet-tissue $\delta^{15}\text{N}$ fractionation in fishes [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 340(1): 1–10.
- VAN DER ZANDEN M J, HULSHOF M, RIDGWAY M S, et al. 1998. Application of stable isotope techniques to trophic studies of age-0 smallmouth bass [J]. Trans Am Fish Soc, 127(5): 729–739.
- VOLLAIRE Y, DAMIEN B, MARIELLE T, et al. 2007. Stable isotope variability in tissues of the Eurasian perch *Perca fluviatilis* [J]. Comp Biochem Phys, 148(3): 504–509.